

Étude de la matière organique dans une bio-toposéquence de sols forestiers ardennais

II. Caractérisation physico-chimique des fractions humiques

par

W. PRINCE-AGBODJAN (*) et F. DELECOUR (*)

Résumé

Les auteurs ont étudié une séquence de sols bruns acides de l'Ardenne belge, avec des humus s'étageant du *mull* au *dysmoder*, notamment par la détermination du quotient de couleur Q 4/6, la chromatographie sur tamis moléculaire et la spectrographie IR.

Il apparaît que les divers types d'humus ne se différencient pas par la nature chimique des constituants de base mais bien par le mode et le degré d'agencement des constituants entre eux et avec les colloïdes minéraux. En d'autres termes, les différences résultent des variations de la vitesse de transformation de la matière organique et de son intégration au substrat minéral, sous l'influence, entre autres, de l'économie en azote.

1. Introduction

Dans une note précédente [Delecour et Prince-Agbodjan, 1975], nous avons discuté de la distribution du carbone et de l'azote dans les fractions humiques d'une séquence de sols bruns acides ardennais, à humus évoluant depuis le *mull* jusqu'au *dysmoder*.

Nous y avons montré que la forme *moder* représente un climax humique. Cet humus est caractérisé par les valeurs les plus élevées des divers paramètres envisagés, notamment le taux d'extraction, la teneur en acides humiques, les rapports AH/AF, AH/Humines ou fractions humiques/fractions fulviques. Les humus de type *mull* ou *dysmoder* s'écartent de ces

(*) Centre d'Etude des Sols Forestiers de la Haute Belgique, Service de la Science du Sol, Fac. Sci. Agron. Gembloux. Recherches subsidiées par l'Institut pour l'Encouragement de la Recherche Scientifique dans l'Industrie et l'Agriculture (I.R.S.I.A.).

valeurs, soit à cause de la plus grande importance que prennent les phénomènes de complexation et de minéralisation quand on tend vers le type *mull*, soit à cause d'un défaut des réactions de synthèse du côté des *dysmoder*.

Dans cette seconde partie, nous tenterons de cerner de plus près la connaissance de la matière organique édaphique, à l'aide de quelques-unes de ses caractéristiques fondamentales. Nous chercherons, plus précisément, à nous faire une idée de la complexité des structures en cause, en ce qui concerne leur degré de condensation, leurs dimensions moléculaires et la nature de leurs groupements fonctionnels. C'est ce qui justifie le recours aux techniques particulières retenues : détermination du quotient de couleur Q 4/6, chromatographie sur tamis moléculaire, spectrographie dans l'infra-rouge.

Certaines de ces techniques font d'ailleurs partie des méthodes de caractérisation courante des acides humiques [Kononova, 1972 ; Orlov, 1972].

2. Matériel et méthodes

2.1. STATIONS ÉTUDIÉES

Les stations ont été décrites dans la note précédente [Delecour et Prince-Agbodjan, 1975 ; cf. aussi Manil *et al.*, 1963].

Rappelons seulement qu'il s'agit d'une séquence de cinq stations de hêtraie sur sols bruns acides à substrat siegenien. L'altitude varie de 360 à 510 m. Les types d'humus s'étagent du *mull* (station 0) au *dysmoder* (station 5A), le poids des horizons holorganiques Ao variant d'environ 5 t/ha à 29 t/ha. Enfin, la productivité forestière se caractérise par une production annuelle en bois fort, ramenée à l'âge de 150 ans, décroissant de 7,4 m³/ha (*mull*) à 4,4 m³/ha (*dysmoder*).

2.2. MÉTHODES D'ANALYSE

Rappelons, tout d'abord, que le fractionnement de la matière organique édaphique est obtenu par la technique de Gascho et Stevenson [1968], complétée par une extraction des humines selon la technique décrite par Merlet [1971].

2.2.1. QUOTIENT DE COULEUR Q 4/6

Le quotient de couleur est pris comme indice du degré de condensation des acides humiques [Welte, 1956]. Il s'obtient par le rapport des valeurs de densités optiques mesurées à deux longueurs d'onde. Les valeurs de celles-ci diffèrent selon les auteurs [Welte, 1956 ; Flaig, 1970 ; Orlov, 1972]. En réalité, le choix des longueurs d'onde est purement conventionnel, comme

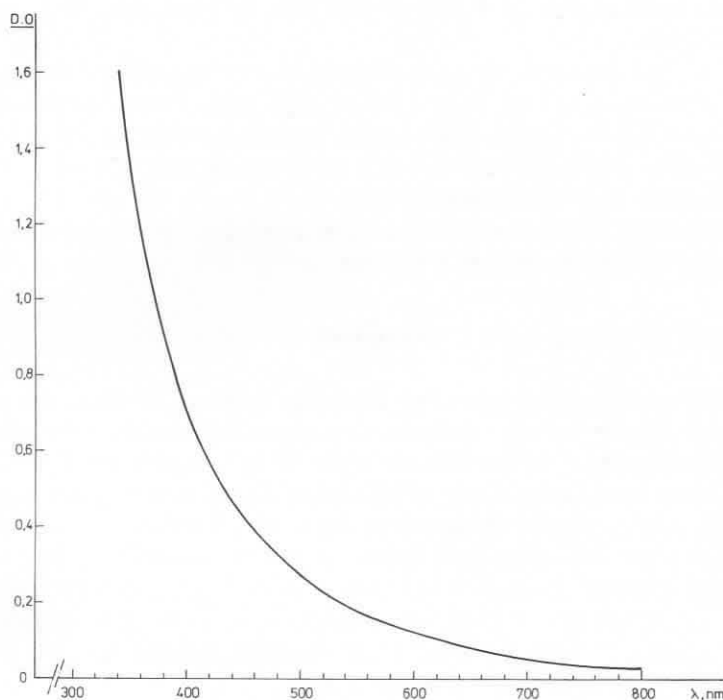


Figure 1. — Spectre d'absorption d'acides humiques extraits par $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,02M.

on peut le déduire de l'allure de la figure 1, représentant, pour un acide humique, la variation de la densité optique en fonction de la longueur d'onde.

Seuls les acides humiques (sauf ceux de la station 4) ont été soumis à cette investigation. 10 mg d'acides humiques lyophilisés ont été dissous dans 5 ml de $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,02M et les densités optiques ont été mesurées à 472 et 664 nm :

$$Q_{4/6} = \frac{E_{472}}{E_{664}}$$

2.2.2. CHROMATOGRAPHIE SUR TAMIS MOLÉCULAIRE

Dans ce type de chromatographie, la distribution des substances se fait en fonction de leurs dimensions moléculaires.

La colonne utilisée, d'une longueur utile de 20 cm et d'un diamètre de 2 cm, était connectée, par une pompe péristaltique assurant un débit de 25 ml/h, à un collecteur de fractions réglé pour fournir des fractions de 2,5 ml. Après des essais préliminaires, sur gels Séphadex G25, G100 et G200, ce dernier a été retenu pour les investigations systématiques. Ses limites de fractionnement, pour des protéines sphériques, correspondent à

des poids moléculaires de 5 000 et 800 000. L'éluant était le tétraborate $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,02M.

En ce qui concerne les acides humiques, 10 mg ont été dissous dans 2 ml de tétraborate et 1 ml de la solution a été prélevé pour la chromatographie. Dans le cas des acides fulviques, les extraits liquides ont été évaporés à sec, sous vide à 30°C, puis repris par 2 ml de tétraborate et 1 ml de la solution a été repris pour la chromatographie.

Les courbes d'élution données comme exemples, ont été tracées à partir des mesures de densité optique à 472 nm.

2.2.3. SPECTROGRAPHIE DANS L'INFRAROUGE

Cette technique nous permet de mettre en évidence la nature des groupements fonctionnels présents dans les substances organiques. Elle nous permettra de répondre à la question de savoir si la variation de type d'humus s'accompagne d'une importante modification des structures chimiques.

Nous avons soumis aux examens les acides humiques et les humines. Les premiers se trouvaient sous forme de poudre lyophilisée, les secondes sous forme d'extrait évaporé à sec, sous vide à 30°C. L'enregistrement des spectres a été effectué à partir de pastilles à base de KBr préparées de manière standard : 200 mg KBr/1 mg d'extrait, soumis au vide pendant 5 min, puis comprimés à 10 t pendant 3 min.

3. Observations et commentaires

3.1. QUOTIENT DE COULEUR Q 4/6

Les valeurs de Q 4/6 obtenues pour les acides humiques sont rassemblées dans le tableau I.

Une distinction assez nette apparaît entre les humus de type *mull* d'une part, *moder* et *dysmoder* d'autre part, à condition de considérer l'ensemble du profil.

Dans les *mull*, le quotient diminue, de manière nette, du haut vers le bas du profil, traduisant un degré de complexation de plus en plus grand des acides humiques. Ce type d'évolution est lié à la meilleure incorporation de la matière organique au substrat minéral, caractéristique de cette forme d'humification.

Dans les *moder* et *dysmoder*, Q 4/6 évolue différemment, selon la nature du réactif d'extraction. Les AH extraits à la soude indiquent un degré de condensation maximum dans l'horizon A11, où Q 4/6 passe par une valeur minimum. En ce qui concerne les AH extraits au pyrophosphate, l'évolution verticale est moins nette, avec tendance aux valeurs les plus faibles vers le bas du profil. Ce type de variation correspond bien à la dynamique

Tableau I. — Q 4/6 des acides humiques.

Stat.	Horizon	Humus	AH extraits par	
			Pyroph.	Soude
0	Fr	<i>mull</i>	4,43	5,83
	A11		4,22	5,07
	A12		3,66	3,81
1	Lv	<i>mull</i>	8,37	9,28
	Fr	<i>acide</i>	7,57	7,50
	A11		6,22	7,86
	A12		4,79	4,45
	A31		4,58	4,12
3A	Lv	<i>moder</i>	6,13	8,12
	F	<i>mulleux</i>	5,90	5,12
	A11		6,67	3,51
	A12		5,49	5,12
	A31		5,54	5,08
5A	Lv	<i>dysmoder</i>	7,72	9,38
	Fr		6,07	6,11
	Fm		7,30	5,60
	H		6,26	4,06
	A11		6,40	2,54
	A12		4,62	4,19
	A31		4,69	5,00

particulière des *moder*, où les activités biologiques tendent à se concentrer plus en surface, l'incorporation des substances humiques au substrat minéral étant moins importante.

3.2. CHROMATOGRAPHIE SUR TAMIS MOLÉCULAIRE

3.2.1. ALLURE DES COURBES

Les figures 2, 3 et 4 donnent des exemples de courbes d'élution qui peuvent être considérées comme caractéristiques, respectivement, des acides humiques extraits à la soude, des mêmes extraits au pyrophosphate et des acides fulviques.

Un simple examen de ces courbes souligne, une nouvelle fois, l'évidente complexité du matériel humique, au sein duquel la séparation entre les divers groupes de composants n'est jamais très nette.

On observe, toutefois, que les courbes d'élution peuvent être réparties en trois groupes assez distincts, ce qui confirme les observations, entre autres, de Mehta *et al.* [1963], de Tan et Giddens [1972].

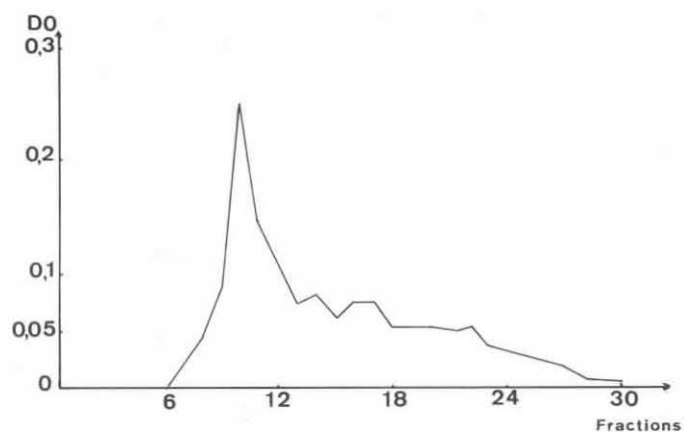


Figure 2. — Courbe d'élution sur Séphadex G 200 d'acides humiques extraits par NaOH 0,03N. Eluant : $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,02M.

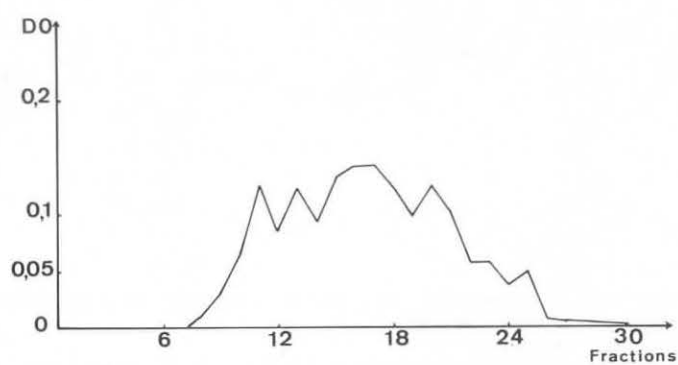


Figure 3. — Courbe d'élution sur Séphadex G 200 d'acides humiques extraits par $\text{Na}_4\text{P}_2\text{O}_7$ 0,02M. Eluant : $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,02M.

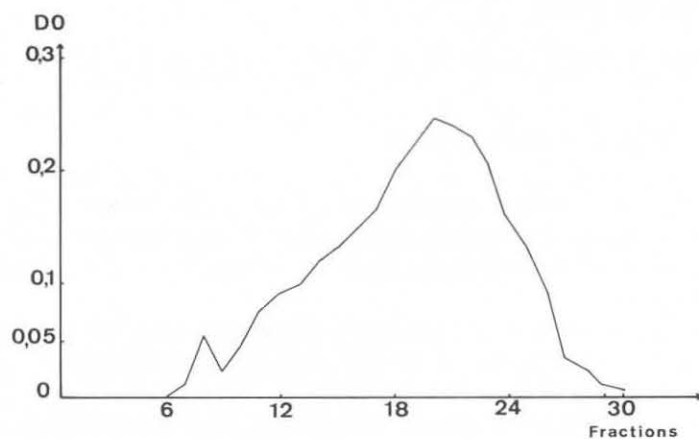


Figure 4. — Courbe d'élution sur Séphadex G 200 d'acides fulviques. Eluant : $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7$ 0,02M.

D'une manière générale, les *AH extraits à la soude* sont caractérisés par une courbe d'élution à *dissymétrie gauche*, correspondant au fait que ces substances contiennent un constituant principal à poids moléculaire élevé et, par conséquent, peu retenu par le gel.

Les *AH extraits au pyrophosphate* fournissent une courbe d'élution que nous appelons de *type intermédiaire*, sans dissymétrie marquée, plus étalée, correspondant à des molécules de dimensions moins grandes mais très diverses, se distribuant plus ou moins régulièrement dans la masse du gel.

Les *acides fulviques*, enfin, se caractérisent par des courbes d'élution de type intermédiaire ou, plus souvent, à *dissymétrie droite*, traduisant une tendance à la prédominance de composés à poids moléculaires relativement faibles. D'autre part, ces AF subissent des phénomènes de condensation ou de polymérisation qui les transforment en composés de plus en plus complexes, se rapprochant toujours davantage des AH, ce qui explique que certaines fractions fulviques peuvent donner des courbes intermédiaires.

3.2.2. NOMBRE DE CONSTITUANTS

Les courbes d'élution des AH extraits à la soude montrent que ceux-ci renferment, en général, quatre constituants (courbes quadrimodales), dont, nous l'avons vu, le principal correspond aux composés à poids moléculaires élevés, exclus du gel.

Les acides humiques étant réputés de forme sphérique [Beutelspacher, 1952] ou ellipsoïdale plus ou moins aplatie [Orlov et Glebova, 1972], il en résulte que nous devons prendre en considération les limites d'exclusion du gel Séphadex calculées pour les protéines sphériques. Ceci signifie que le poids moléculaire du constituant principal des AH extraits à la soude dépasse 800 000, ce qui est en accord avec les conclusions de Cameron *et al.* [1972, 1974]. Cependant Orlov *et al.* [1971, 1972] considèrent que des poids moléculaires dépassant 200 000 sont à attribuer à des associations de molécules plutôt qu'à des molécules « simples ». Quoiqu'il en soit, une estimation planimétrique de l'importance de ce constituant principal nous montre que celui-ci correspond à 40 à 60 % de l'ensemble des AH extraits à la soude. Ceux-ci se caractérisent donc par une forte proportion de composés à poids moléculaires élevés.

Les AH extraits au pyrophosphate paraissent contenir au moins cinq constituants, sans que l'un ou l'autre, nous l'avons vu, soit nettement prédominant. Ils se montrent donc nettement moins homogènes que leurs homologues extraits à la soude et ils couvrent, pratiquement, toute la gamme de poids moléculaires, entre 5 000-10 000 et 800 000.

Enfin, les AF présentent, généralement, un faible nombre de pics assez lâches. Il s'agit de molécules relativement petites, à dimensions relativement homogènes, le constituant principal représentant souvent plus de 50 % de la surface délimitée par les courbes d'élution. Les poids moléculaires les plus fréquents paraissent se situer entre 5 000 et 10 000, ce qui est en bon accord avec les données de la littérature [Mehta *et al.*, 1963].

3.3. SPECTROGRAPHIE DANS L'INFRA-ROUGE

Rappelons que les acides humiques et les humines ont fait l'objet des observations.

3.3.1. ACIDES HUMIQUES

La figure 5 donne, à titre d'exemples, les spectres obtenus à partir des AH extraits à la soude, pour les horizons F, A1, A12 (g) et A31 de la station 3A (*moder mulleux*).

Tous les spectres enregistrés pour les acides humiques révèlent diverses bandes principales d'absorption, également observées par d'autres auteurs [Khan, 1971 ; Mendez et Stevenson, 1972 ; Stevenson et Goh, 1972 ; Wagner et Stevenson, 1965]. Il s'agit de :

- une large bande de vibration de valence OH, à $3\,380\text{ cm}^{-1}$;
- une large bande de vibration de valence C-H aliphatique, à $2\,920\text{ cm}^{-1}$, avec un léger épaulement à $2\,850\text{ cm}^{-1}$;
- une bande de vibration de valence C=O, aux environs de $1\,720\text{ cm}^{-1}$;
- une large bande s'étalant de $1\,635\text{ cm}^{-1}$ à $1\,690\text{ cm}^{-1}$, attribuable à la vibration de valence C=C et, peut-être aussi, à la vibration de valence C=O des composés quinoniques ;
- des bandes à $1\,500\text{ cm}^{-1}$ et à $1\,390\text{ cm}^{-1}$, attribuables aux vibrations de valence COO^- ;
- une bande de vibration de valence C=O à $1\,230\text{ cm}^{-1}$, avec couplage à $1\,430\text{--}1\,450\text{ cm}^{-1}$; elle englobe, probablement, la vibration de déformation OH ;
- des bandes à 750 cm^{-1} et 820 cm^{-1} , apparaissant sur certains spectres et attribuables, respectivement, à la vibration de déformation C-H du groupe $(\text{CH}_2)_n$, avec $n > 4$, et à la vibration de valence C-C.

L'examen des spectres conduit aux observations suivantes :

- Tous les spectres sont, pratiquement, identiques sur toute leur longueur, y compris dans la zone de « finger print ». Cela suggère que non seulement les substances en cause ne sont pas fondamentalement différentes, mais encore qu'elles sont probablement de même origine. Etant donné la structure de la lignine et les arguments avancés par Flaig [1964], il nous paraît raisonnable d'admettre que les matières humiques, du moins dans les stations en cause, résultent principalement de la condensation des produits de dégradation de la lignine.
- Quelques différences apparaissent au sein du profil, qui se manifestent par l'importance relative de certaines bandes d'absorption ou l'apparition de bandes nouvelles.

C'est ainsi que, au fur et à mesure que l'on va vers les horizons profonds, une bande de vibration de valence OH libre devient de plus en plus nettement marquée. A titre d'hypothèse, on peut peut-être admettre que, dans ces horizons, à cause notamment des phénomènes de condensation (qui peuvent être dus, entre autres, aux alternances sécheresse-humidité), le noyau

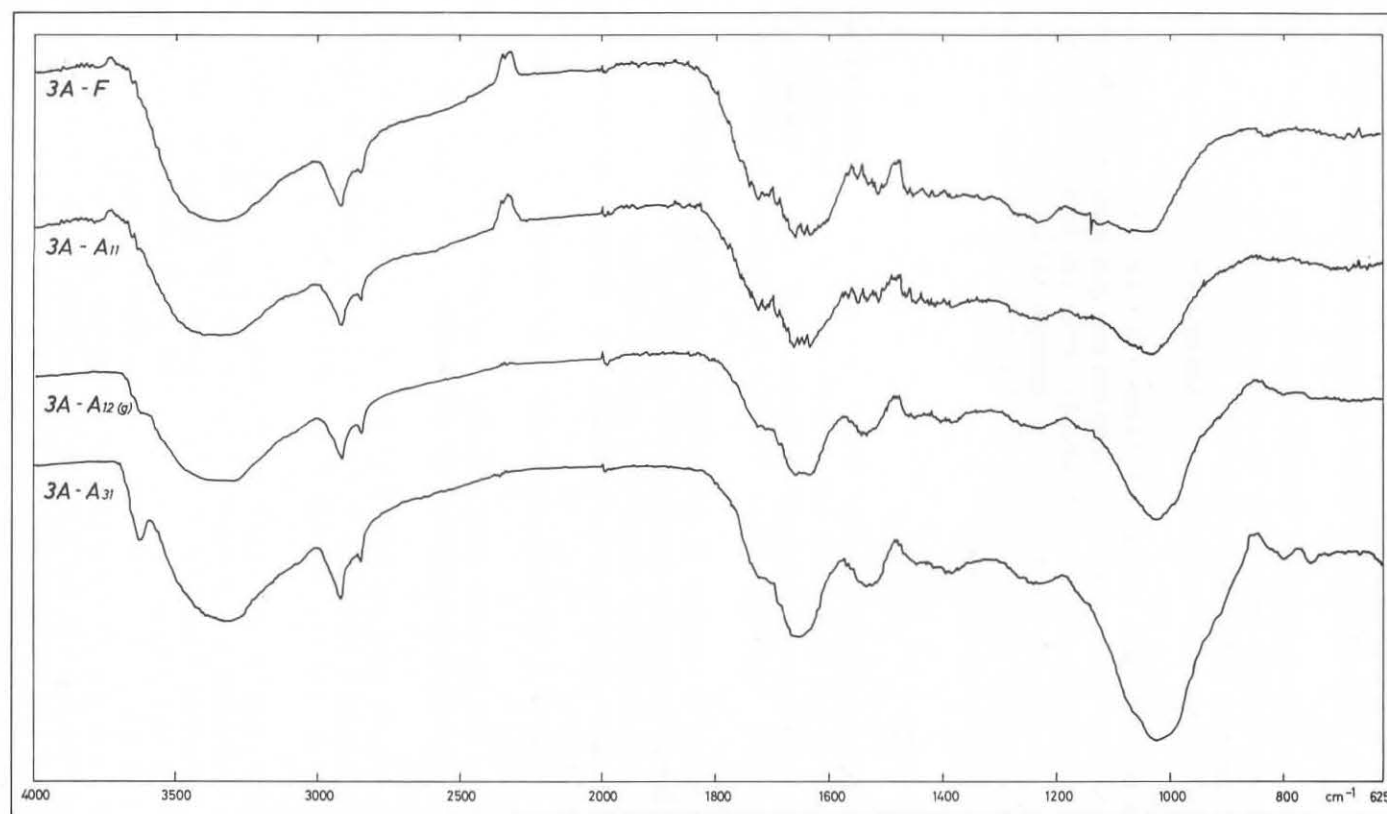


Figure 5. — Spectres IR d'acides humiques d'un sol brun acide à *moder mulleux*, extraits par NaOH 0,03N.

central de la molécule des AH devient de plus en plus important et les chaînes latérales de plus en plus rares. Les fonctions OH associées à ces dernières acquerraient, ainsi, un degré de liberté supplémentaire qui serait à l'origine du pic OH libre.

D'autre part, la bande de vibration Si-O ($900-1\,100\text{ cm}^{-1}$) devient de plus en plus marquée dans les horizons hémorganiques et minéraux. Selon Shurukhina *et al.* [1973], cette observation reflète la complexation de plus en plus grande, dans ces horizons, entre les matières humiques et les colloïdes minéraux.

Il faut noter, enfin, que les AH extraits à la soude d'une part, au pyrophosphate d'autre part, ne se différencient pas par leurs spectres IR. On peut donc penser que la différence de solubilité entre ces deux types d'acides humiques ne tient pas à une constitution chimique fondamentalement différente mais, plutôt, à l'hétérogénéité des forces de liaison entre éléments constitutifs des acides humiques.

3.3.2. HUMINES

La figure 6 présente des exemples de spectres IR des humines, pour les horizons F et A11 des stations 1 (*mull acide*) et 3A (*moder mulleux*).

Par rapport à ceux des acides humiques, les spectres des humines sont plus pauvres en bandes (le tableau II facilite la comparaison). Ces spectres comportent :

- une bande de vibration de valence OH, au voisinage de $3\,420\text{ cm}^{-1}$;
- une bande de vibration de valence C-H, à $2\,920\text{ cm}^{-1}$;
- une bande de vibration de valence C=C, à $1\,620\text{ cm}^{-1}$;
- une bande à $1\,440\text{ cm}^{-1}$, attribuable à la vibration de déformation $\delta(\text{CH}_2)$;
- une bande à $1\,140\text{ cm}^{-1}$, attribuable à la vibration de déformation $\gamma(\text{C-O})$;
- d'autres bandes nettes mais difficiles à définir, à 970 , 880 , 680 et 625 cm^{-1} [peut-être vibrations de déformation $\gamma(\text{C-H})$ et/ou $\gamma(\text{C-halogène})$].

On observe donc une nette différence entre les spectres IR des acides humiques et ceux des humines. On notera, entre autres, chez ces dernières, la disparition de la plupart des bandes caractéristiques des groupements carboxyles.

D'autre part, comme dans le cas des AH, tous les spectres sont, pratiquement, identiques : ils renferment les mêmes bandes essentielles.

L'importance relative des bandes d'absorption à $1\,140\text{ cm}^{-1}$ et 970 cm^{-1} apparaît quelque peu différente entre les profils à *mull* et *dysmoder*, à condition de considérer l'ensemble des horizons. Dans les *mull*, la bande à $1\,140\text{ cm}^{-1}$ devient nettement plus importante que la bande à 970 cm^{-1} , à partir de l'horizon A11. Par contre, dans les humus à tendance *moder*, tout en devenant plus importante, la bande à $1\,140\text{ cm}^{-1}$ ne dépasse, pratiquement, jamais la bande à 970 cm^{-1} . Le manque de certitude quant à l'identi-

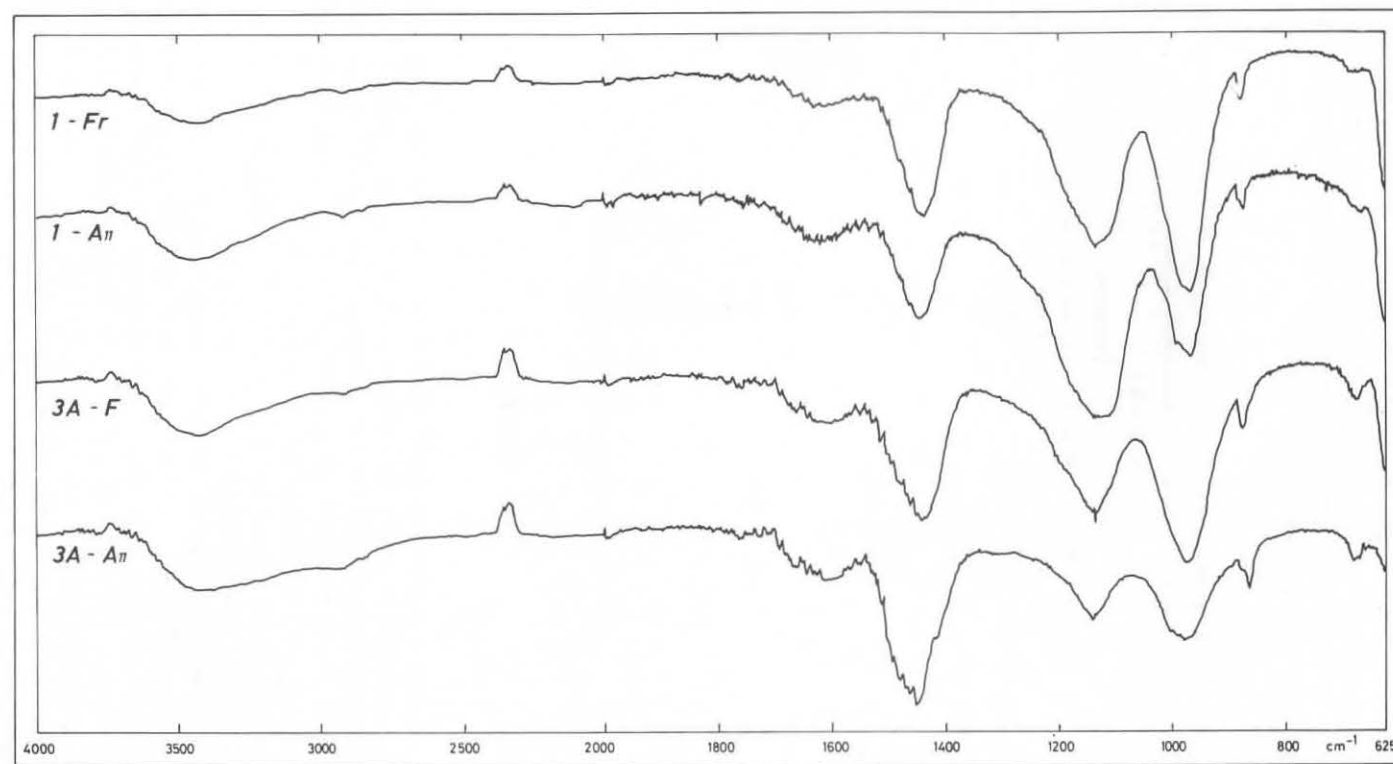


Figure 6. — Spectres IR d'humines des horizons humifères de deux sols bruns acides, à *mull acide* et à *moder mulleux*.

fication des pics en cause, ne permet pas une interprétation complète des phénomènes. Cependant, il est raisonnable de penser que cette différence de comportement doive être mise en relation avec l'intensité plus grande, dans le cas du *mull*, des activités biologiques responsables d'une meilleure incorporation des matières humiques au substrat minéral.

Tableau II. — Comparaison des bandes d'absorption IR des AH et des humines.

λ en cm^{-1}	
AH	Humines
3 380	3 420
2 920-2 850	2 920
1 720	—
1 690-1635	—
—	1 620
1 550	—
1 450-1430	1 440
1 390	—
1 230	—
—	1 140
1 100-900	970
820	880
750	—
—	680
—	625

4. Conclusions

La première partie de ce travail [Delecour et Prince-Agbodjan, 1975] nous a enseigné que les principales différences entre les divers types d'humus résident dans des teneurs différentes en substances humiques des divers groupes (AH notamment) et aussi dans leur économie en azote, appréciée globalement dans notre cas, par les valeurs du rapport C/N.

Les investigations plus fondamentales dont il a été question dans les pages précédentes, nous apportent d'autres précisions.

La distinction classique des matières humiques en trois groupes, acides humiques, acides fulviques et humines, est purement conventionnelle. Chacun de ces groupes comporte différents composants, dont les poids moléculaires s'étagent d'environ 5 000-10 000 à plus de 800 000. Il existe des « chevauchements » entre ces groupes : par exemple, il ne fait pas de doute qu'il existe des « acides humiques » à poids moléculaires plus faibles que ceux de certains « acides fulviques ».

Chaque groupe de substances humiques (acides humiques et humines, notamment) se caractérise par une constitution chimique fondamentale pratiquement constante à travers toutes les stations de la séquence étudiée. Cette observation est en bon accord avec les conclusions d'Orlov *et al.* [1962] qui avaient analysé des sols représentant une gamme beaucoup plus large de conditions écologiques. La similitude spectrale nous a amenés à conclure à une origine principale commune des matières humiques de nos stations : la lignine, d'autant plus que toutes nos stations se situent en hêtraie.

Cependant, sous cette apparente identité des substances humiques, envisagées du point de vue de la nature chimique de leurs groupements constitutifs, se cache, en réalité, une complexité évidente, si l'on considère l'agencement de ceux-ci entre eux ou avec d'autres substances, minérales notamment.

En conclusion générale, nous retiendrons donc que les différences entre les divers types d'humus auxquels nous avons eu affaire ne tiennent pas à la nature chimique des constituants mais à leur mode et à leur degré d'agencement entre eux et avec les colloïdes minéraux. Les différences résultent des variations de la vitesse de transformation de la matière organique et de son intégration au substrat minéral. La dynamique de l'azote joue là, sans aucun doute, un rôle prépondérant.

En termes imagés, on pourrait écrire que la nature utilise des matériaux, des briques identiques (composés humiques), avec des additifs divers (composés azotés) et des ciments de pouvoir liant très variable (énergie de liaison), pour fabriquer des bâtiments différents (types d'humus).

Disons, enfin, que l'utilisation de la technique de fractionnement de Gascho et Stevenson, alliée à la chromatographie sur tamis moléculaires (gels Séphadex), envisagée ici comme procédé supplémentaire de purification, peut nous fournir des substances relativement homogènes. Avec le concours des techniques modernes d'analyse physico-chimique, RX [Orlov, 1972], résonance magnétique nucléaire, résonance du spin électronique [Kleist et Muecke, 1966 ; Cheshire et Cranwell, 1972] etc., on peut espérer voir progresser davantage notre connaissance de l'humus.

Ces progrès sont nécessaires, car les études effectuées au sujet de l'humus ne relèvent pas de la pure spéculation. Elles trouvent leur justification, rappelons-le, dans les grandes fonctions que remplit l'humus [Manil, 1961] et dans l'étroite relation existant entre l'état de la matière organique et la productivité des sols.

C'est ainsi que la présente étude a été entreprise en raison du rôle de la matière organique dans l'économie du sol en ions H^+ et Al^{+++} , dont l'importance écologique n'est plus à démontrer, et que la prochaine phase du travail concerne la détermination des caractéristiques d'acidité des fractions humiques.

Summary

Organic matter of a bio-toposequence of forest soils in Ardennes. II. Physico-chemical characteristics of humic fractions

The authors have studied a sequence of acid brown soil, whose humus types varied from *mull* to *dysmoder*, in Belgian Ardennes, namely by means of determination of colour quotient $Q_{4/6}$, gel permeation chromatography, and I.R.-spectrography.

It appeared that humus types are not distinguishable by the nature of their basic chemical components, but by the kind and degree of arrangement of the components between themselves and with mineral colloids. The differences come from variation in the transformation rate of organic matter and of its integration to the mineral substratum, under the influence, among other factors, of nitrogen content.

Bibliographie

- BEUTELSPACHER H. [1952]. Physikalisch-chemische Beiträge zur Humusforschung. *Z. Pflanzenernaehr. Dueng. Bodenkd.* **57** (1), 57-65.
- CAMERON R. S. et POSNER A. M. [1974]. Molecular weight distribution of humic acid from density gradient ultracentrifugation profiles corrected for diffusion. In : *Trans. 10th Int. Congr. Soil Sci. (Moscow)*, vol. 2, 325-331.
- CAMERON R. S., THORNTON B. K., SWIFT R. S. et POSNER A. M. [1972]. Molecular weight and shape of humic acid from sedimentation and diffusion measurements on fractionated extracts. *J. Soil Sci.* **23** (4), 394-408.
- CHESHIRE M. V. et CRANWELL P. A. [1972]. Electron-spin resonance of humic acids from cultivated soils. *J. Soil Sci.* **23** (4), 424-430.
- DELECOUR F. et PRINCE-AGBODJAN W. [1975]. Etude de la matière organique dans une bio-toposéquence de sols forestiers ardennais. I. Distribution du carbone et de l'azote dans les fractions humiques. *Bull. Rech. Agron. Gembloux* **10** (2), 135-150.
- FLAIG W. [1964]. Effects of microorganisms in the transformation of lignin to humic substances. *Geochim. Cosmochim. Acta* **28**, 1523-1535.
- FLAIG W. [1970]. Contribution à la connaissance de la constitution et de la synthèse des acides humiques. *Science du Sol* **2**, 39-72.
- GASCHO G. J. et STEVENSON F. J. [1968]. An improved method for extracting organic matter from soil. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* **32** (1), 117-119.
- KHAN S. U. [1971]. Distribution and characteristics of organic matter extracted from the black solonchic and black chernozemic soils of Alberta : the humic acid fraction. *Soil Sci.* **112** (6), 401-418.
- KLEIST H. et MUECKE D. [1966]. Stabile freie Radikale in Huminsäuren. *Experientia* **22** (3), 136-137.
- KONONOVA M. M. [1972]. Current problems in the study of soil organic matter. *Soviet Soil Sci.* **4** (4), 420-428.
- MANIL G. [1961]. Quelques aspects actuels du problème de la matière organique des sols. *Meded. Landbouwhogeschool. Opzoekingsstn. Gent* **26** (1), 50-83.
- MANIL G., DELECOUR F., FORGET G. et ATTAR A. R. [1963]. L'humus, facteur de station dans les hêtraies acidophiles de Belgique. *Bull. Inst. Agron. Stn. Rech. Gembloux* **31**, 28-102 et 183-222.

- MEHTA N. C., DUBACH P. et DEUEL H. [1963]. Untersuchungen über die Molekulargewichtsverteilung von Huminstoffen durch Gelfiltration an Sephadex. *Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenkd.* **102** (2), 128-137.
- MENDEZ J. et STEVENSON F. J. [1966]. Reductive cleavage of humic acids with sodium amalgam. *Soil Sci.* **102**, 85-93.
- MERLET D. [1971]. *Mise au point technique concernant l'extraction et la caractérisation des composés organiques présents dans les sols*. Document n° 15. Nancy, Centre de Pédologie Biologique, 19 p.
- ORLOV D. S. [1972]. Modern chemical and physical techniques for studying the nature and structure of soil humic substances. *Soviet Soil Sci.* **4** (4), 461-467.
- ORLOV D. S., AMMOSSOVA Y. M., GLEBOVA G. I. et al. [1971]. Molecular weights, sizes, and configuration of humic-acid particles. *Soviet Soil Sci.* **3** (6), 673-687.
- ORLOV D. S. et GLEBOVA G. I. [1972]. Electron-microscope investigation of humic acids. *Soviet Soil Sci.* **4** (4), 445-452.
- ORLOV D. S., ROZANOVA O. N. et MATYUKHINA S. G. [1962]. Infrared absorption spectra of humic acids. *Soviet Soil Sci.* **1**, 15-21.
- SHURUKHINA S. I., SHURUKHINA V. V. et TARLAKOV Y. P. [1973]. Study of humus extracts by infrared spectroscopy. *Soviet Soil Sci.* **5** (2), 240-243.
- STEVENSON F. J. et GOH K. M. [1972]. Infrared spectra of humic and fulvic acids and their methylated derivatives : evidence for nonspecificity of analytical methods for oxygen-containing functional groups. *Soil Sci.* **113** (5), 334-345.
- TAN K. H. et GIDDENS J. E. [1972]. Molecular weights and spectral characteristics of humic and fulvic acids. *Geoderma* **8** (4), 221-229.
- WAGNER G. H. et STEVENSON F. J. [1965]. Structural arrangement of functional groups in soil humic acid as revealed by infrared analyses. *Soil Sci. Soc. Am. Proc.* **29** (1), 43-48.
- WELTE E. [1956]. Zur Konzentrationsmessung von Huminsäure. *Z. Pflanzenernähr. Düng. Bodenkd.* **74**, 219-226.